

マイクロビーム照射後の脳の反応

Microbeam Radiation Induced Brain Response

近藤 威、梅谷 啓二、福本 学、丸橋 晃、
 篠原 邦夫、小野 公二、栗原 愛、菓子野 元郎、成山 展照、中村 和浩、近藤 靖
 Takeshi Kondoh, Keiji Umetani, Manabu Fukumoto, Akira Maruhashi,
 Kunio Shinohara, Koji Ono, Ai Kurihara, Genro Kashino, Nobuteru Nariyama, kazuhiko Nakamura,
 Yasushi Kondoh

神戸大学医学部脳神経外科、高輝度光科学研究センター、
 東北大学加齢医学研究所、京都大学原子炉実験所、秋田県立脳血管研究センター

Kobe University Graduate School of Medicine, Japan Synchrotron Radiation Research Institute, Tohoku
 University Institute of Development, Aging and Cancer, Kyoto University Research Reactor Institute,
 Research Institute for Brain and Blood Vessels Akita

アブストラクト

2006Aの実験に引き続き、前期と同様のコリメーターを用いて、照射実験を行った。今回は特に、生体において照射後一週目にMRI画像を撮影し、また、同時期の組織で免疫染色を行った。MRIでは組織損傷がなく、脳血流の低下が確認された。Vimentin染色では非照射部位での反応性グリア細胞の出現が確認された。

Abstract

Following the previous 2006A study, we focused on in vivo imaging of rat brain after microbeam treatment and simultaneously studied immunohistochemistry of rat brain. MR images showed no tissue damage at 1 week however, cerebral blood flow reduced in the irradiated side. Vimentin immunostaining showed reactive astrocyte at not only irradiated area but also non-irradiated area, indicating bystander response in those area.

< 研究の背景 >

2006Aにおいて、25 μ mで200 μ m間隔に並んだスタレ状の白色ビームを用いて、ピークと谷の線量測定を行い、培養細胞および生体ラットを用いて、このスタレ状ビームの生物学的効果について評価した。物理学的評価では、ピークの線量の均一性が問題となり、また谷部分に微弱な照射がある事が明らかになった。2006Bにおいては、この物理学的線量測定をさらに進める必要があると考えられたが、一方で、様々な生物学的反応性を捉えるために

は、固定されたビーム幅、ビーム間隔では限界があると考えられ、2006Bでは、可変式コリメーターの作成に着手した。また、培養細胞、生体ラットへの照射では、谷部分の照射の影響が示され、バイスタンダー効果の可能性が2006Aで示唆されたが、その詳細については解析されず、2006Bにおいて、より詳細な培養細胞系での実験と、生体においては照射後の脳浮腫の反応を動物用MRIで撮像するとともに、組織を免疫染色にて解析することを予定した。

<対象と方法>

1) 可変式コリメーター

2つのコリメーターを重ねて置くことにより、両者の位置をずらし、ビーム幅を可変できるものと考えられる。このため、新たなコリメーターを作成中であるが、そのビーム幅の均一性について、物理学的線量評価の方法の信頼性向上と合わせて現在新しい手法を開発しつつあり、今期での最終報告にはいたらない。

2) 培養細胞生物効果判定

細胞生物学的ドシメトリとしてH2AXのリン酸化部位は、DNA二重鎖切断に伴うクロマチン構造変化を表している。53BP1も同じ部位に集まるこれらが利用できる。

3) 生体での反応性

動物用MRIにて画像化し、急性期の脳損傷を確認した。また、同時期の組織をVimentin染色にてビームの谷部分について確認した。

<結果>

Phospho-H2AX抗体を用いた蛍光染色法により、照射領域の細胞を標識することができた。53BP1抗体を用いた蛍光染色法により、非照射領域の細胞も0.05Gy(2induced foci/cell/sec)程度被ばくしている可能性が示唆された(Figure1)。(1Gy/20sec irradiation)微小核試験において、ウェル中の細胞全体で微小核が形成している可能性が示唆された。Medium transfer 法によるバイスタンダー効果の検討により、培養上清を介したバイスタンダー効果が見られた。

照射後1週目の動物用MRIの画像化では、明らかな組織損傷や脳浮腫等は認められなかったが、照射側で脳血流の低下が認められ、血管系の照射の影響が考えられた(Figure2)。また、この一週後の組織の免疫染色では、前回2006A期でスリット状に組織損傷が有った

ことを確認したが、Vimentin染色では、非照射部位でも幅の広いVimentin陽性が認められ(Figure3)、反応性astrocyteの出現が示唆され、MRTの脳組織に対する保護的役割を考えた。

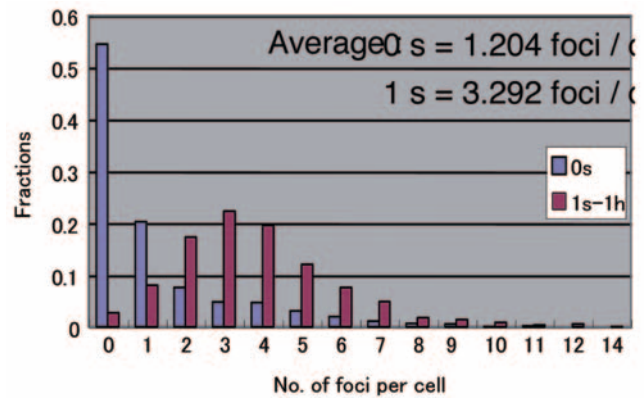


Fig.1.非照射領域細胞集団の53BP1フォーカス数の分布

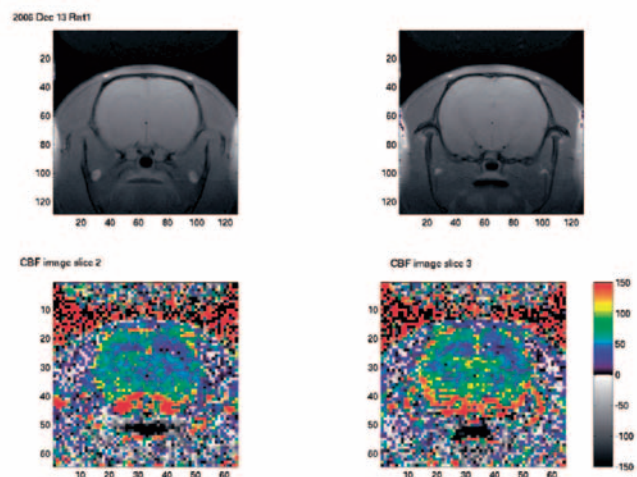


Fig.2. 照射後一週目のMRI(上段)と脳血流分布(下段)

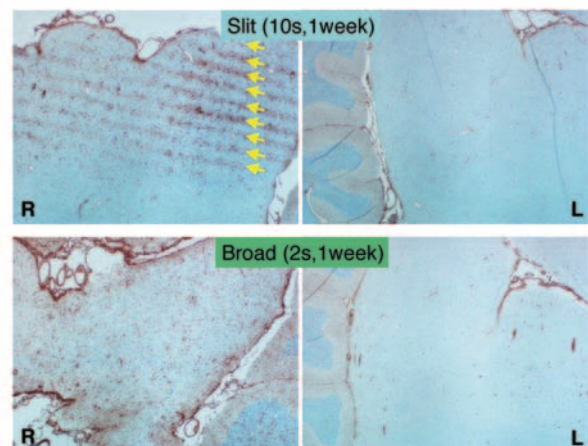


Fig.3. Vimentin免疫染色